

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
10. Jg. 1972, S. 51—55

Die Angiotensinase-Aktivität der α -L-Asparaginyl-Aminopeptidase im Serum von Normalpersonen, bei hepatobiliären Krankheiten und während der Schwangerschaft

Von H. KAULHAUSEN, P. PFEIFFER¹⁾ und H. BREUER

Aus dem Institut für Klinische Biochemie und Klinische Chemie der Universität Bonn

(Eingegangen am 9. August 1971)

Die Angiotensinase-Aktivität der α -L-Asparaginyl-Aminopeptidase (EC 3.4.1.2)²⁾ wurde mit einem optischen Test im Serum von 25 Normalpersonen (10 Frauen und 15 Männer), von 15 Schwangeren und von 14 Patienten mit hepatobiliären Krankheiten bestimmt. Die mittlere Aktivität der α -L-Asparaginyl-Aminopeptidase, ausgedrückt in U/l, betrug bei 10 normalen Frauen $7,25 \pm 1,36$, bei 15 normalen Männern $7,38 \pm 2,00$, bei 15 Schwangeren $7,40 \pm 3,07$ sowie bei 6 Patienten mit Verschlussikterus und/oder Gallengangsstrikturen $42,10$, bei 4 Patienten mit Cholelithiasis $25,25$ und bei 4 Patienten mit Leberparenchymerkrankungen $13,93$. Zwischen den Aktivitäten der α -L-Asparaginyl-Aminopeptidase und der alkalischen Phosphatase bestand bei den Patienten mit hepatobiliären Krankheiten eine positive Korrelation ($+ 0,713$), die statistisch signifikant war ($0,005 > p > 0,001$). Die vorliegenden Ergebnisse legen die Vermutung nahe, daß die herabgesetzte vasopressorische Reaktion auf intravenöse Infusionen von α -L-Asparaginyl-Angiotensin II bei Patienten mit dekompensierter Lebercirrhose durch die erhöhte Aktivität der α -L-Asparaginyl-Aminopeptidase bedingt ist.

The angiotensinase activity of α -L-asparaginyl aminopeptidase in the serum of normal subjects, in patients with hepatobiliary diseases and during pregnancy

The angiotensinase activity of α -L-asparaginyl aminopeptidase (EC 3.4.1.2) was measured by means of an optical test in the serum of 25 normal subjects (10 females and 15 males), 15 pregnant women and 14 patients with hepatobiliary diseases. The mean values for the activity of α -L-asparaginyl aminopeptidase, expressed as U/l, were 7.25 ± 1.36 in 10 normal females, 7.38 ± 2.00 in 15 normal males, 7.40 ± 3.07 in 15 pregnant women, and 42.10 in 6 patients with obstructive jaundice and/or strictures of the biliary tract, 25.25 in 4 patients with cholelithiasis and 13.93 in 4 patients with diseases of liver parenchyma. A positive correlation ($+ 0.713$), which was statistically significant ($0.005 > p > 0.001$), was found between the activities of α -L-asparaginyl aminopeptidase and alkaline phosphatase. On the basis of the results reported here it is concluded that the diminished pressor action of intravenously administered α -L-asparaginyl angiotensin II, observed in patients with decompensated liver cirrhosis, may be due to an increased activity of the α -L-asparaginyl aminopeptidase.

Die stärkste pressorische Substanz im menschlichen Plasma, das Oktapeptid Angiotensin II, wird durch sogenannte Angiotensinasen inaktiviert. Bisher sind verschiedene Peptidasen mit Angiotensin-spaltender Wirkung beschrieben worden; dabei handelt es sich im einzelnen um folgende Enzyme:

a) die *Endopeptidasen* Pepsin, Trypsin und Chymotrypsin (1—3),

b) die *Carboxypeptidasen*, die in der Niere des Schweines, in der Leber des Kaninchens und im Urin des Menschen vorkommen (4), allerdings noch nicht im menschlichen Plasma nachgewiesen werden konnten, sowie

c) die *Aminopeptidasen*.

Bei der Untersuchung der Aminopeptidasen zeigte sich, daß die α -L-Verbindungen rascher gespalten werden als diejenigen Oktapeptide, die am Aminoende α -D-Asparagin, β -D-Asparagin oder β -L-Asparagin enthalten (5). Die α -L-Asparaginyl-Aminopeptidase (A_1AP) inaktiviert nur α -L-Asparaginyl-Angiotensin II (pH-Optimum 7,4),

während die α -L-Aspartyl-Aminopeptidase (A_2AP) nur α -L-Aspartyl-Angiotensin II (pH-Optimum 6,8) spaltet (6, 7). KLAUS und Mitarbeiter (8) fanden, daß die Abspaltung von α -L-Asparagin der geschwindigkeitsbestimmende Schritt bei der enzymatischen Hydrolyse von α -L-Asparaginyl-Angiotensin II ist.

Über die pathophysiologische Bedeutung der Angiotensinasen ist nur wenig bekannt. So wurden bei Patienten mit renaler Hypertonie erhöhte (9) oder erniedrigte (10, 11), meist aber unveränderte (12—16) Angiotensinase-Aktivitäten beschrieben. Dagegen wurde im Serum von Patienten mit hepatobiliären Krankheiten stets ein Anstieg der Angiotensinase-Aktivität beobachtet (16—18). Während der Schwangerschaft (3. Trimenon) fanden sich zum Teil erhöhte (9, 12, 19—22), zum Teil normale (16, 18) Werte für die Angiotensinase-Aktivität.

Die in verhältnismäßig geringer Anzahl vorliegenden und mit unterschiedlicher Methodik gewonnenen Ergebnisse veranlaßten uns, die Angiotensinase-Aktivität der α -L-Asparaginyl-Aminopeptidase während der Schwangerschaft, besonders aber bei Patienten mit hepatobiliären Krankheiten zu bestimmen. Diese Untersuchungen sollten dazu beitragen, den erniedrigten

¹⁾ Teil der Dissertation P. PFEIFFER, Medizinische Fakultät der Universität Bonn, 1971.

²⁾ Enzym: A_1AP = Amino-acyl-oligopeptid-Hydrolase (EC 3.4.1.2).

Blutdruck bei chronischen Leberkrankheiten sowie die verminderte vasopressorische Reaktion auf Infusionen von α -L-Asparaginy-Angiotensin II bei dekompensierter Lebercirrhose (23, 24) zu erklären.

Methodik

Reagenzien, Puffer und Pharmaka

Alle Reagenzien waren von p. a.-Reinheitsgrad (Merck, Darmstadt). 2-Oxoglutarinsäure und NADH wurden von Boehringer Mannheim bezogen. Es wurden folgende Puffer verwendet: 0,067M Phosphat-Puffer (pH 6,4), 0,067M Phosphat-Puffer (pH 7,2) und 0,67M Phosphat-Puffer (pH 7,2).

Lösungen: 1,6M und 2,8M Ammoniumsulfat-Lösung.

Hypertensin Ciba: Trockenampullen mit 2,5 mg α -L-Asparaginy-⁵Valin-Angiotensin II (Ciba, Basel/Schweiz).

Enzyme

Folgende Enzyme wurden von Boehringer Mannheim bezogen: L-Asparagin-Amidohydrolase (Asparaginase [EC 3.5.1.1]), Aspartat-Aminotransferase (EC 2.6.1.1) und L-Malat: NAD-Oxydoreduktase (EC 1.1.1.37).

Normalpersonen

Als Normalpersonen dienten 10 Frauen und 15 Männer (Alter 22–48 Jahre), die frei von erkennbaren Leberkrankheiten waren.

Schwangere

Die Seren stammten von 15 Frauen im 3. Trimenon (Alter 21 bis 39 Jahre). Zwei Schwangere hatten hepatobiliäre Komplikationen.

Leberkranke

Es handelte sich um neun weibliche (Alter 25–71 Jahre) und fünf männliche Patienten (Alter 32–67 Jahre) der Chirurgischen Universitätsklinik Bonn, bei denen die klinische Diagnose

- biliäre Erkrankung mit Verschlusssyndrom (N = 10),
- Lebercirrhose (N = 3) bzw.
- Pankreastumor (N = 1)

gestellt worden war.

Gewinnung des Serums

Blut wurde aus einer Cubitalvene entnommen und 20–30 Min. nach der Entnahme 10 Min. bei 1500 g zentrifugiert. Die Inkubationsversuche wurden spätestens 3 Stdn. nach der Blutentnahme begonnen.

Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase und der Alanin-Aminotransferase im Serum

Die Bestimmungen erfolgten nach den Angaben der jeweiligen Biochemica Test Combinationen, Boehringer Mannheim.

Bestimmung der Aktivität der α -L-Asparaginy-Aminopeptidase

Die Bestimmung erfolgte in Anlehnung an OELKERS und GOLDACKER (25); anstelle der aus Meerschweinchenblut gewonnenen Asparaginase wurde eine Enzympräparation aus *E. coli* verwendet. Jeweils 0,5 ml der 1:1 mit 0,9proz. NaCl-Lösung verdünnten Serumproben wurden mit 5 mg Hypertensin Ciba, das in 1,5 ml 0,067M Phosphat-Puffer (pH 6,4) gelöst war, 60 Min. bei 37° im Schüttelthermostaten inkubiert. Die Substratkonzentration betrug 1,8 mM. Anschließend wurde die Inkubationslösung zur Eiweißfällung 10 Min. auf 100° erhitzt, das Präzipitat 20 Min. bei 1500 g abzentrifugiert und verworfen. 1,5 ml des Überstandes wurden nach Zugabe von 0,2 ml 0,67M Phosphat-Puffer (pH 7,2) mit 0,2 ml Asparaginase-Lösung 60 Min. bei 37° inkubiert. Die entstehende Asparaginsäure wurde im optischen Test bei Raumtemperatur quantitativ bestimmt. Zu diesem Zweck wurden nacheinander in die Küvette pipettiert: 1,86 ml 0,067M Phosphat-Puffer (pH 7,2), 0,02 ml einer Aspartat-Aminotransferase-Lösung (2,5 mg Protein/ml in 1,6M Ammoniumsulfat), 0,02 ml einer Malatdehydrogenase-Lösung (2,5 mg Protein/ml in 2,8M Ammoniumsulfat), 0,05 ml einer 1proz. NADH-Lösung sowie 1 ml

der zu untersuchenden Lösung. Der Küvetteninhalt wurde gemischt und die Extinktion E_1 abgelesen. Durch Zugabe von 0,05 ml 2-Oxoglutarat-Lösung wurde der optische Test gestartet. Nach 10 Min. wurde die Extinktion E_2 abgelesen. Mit Hilfe der folgenden Umrechnungsformel wird die Aktivität der α -L-Asparaginy-Aminopeptidase (A_1AP) errechnet:

$$A_1AP\text{-Aktivität [U/l]} = (E_1 - E_2 - E_{\text{Blindwert}}) \cdot 97,933$$

Da die Asparaginase ebenfalls eine Angiotensinase-Aktivität entfaltet, ist von allen ΔE -Werten ein entsprechender Blindwert abzuziehen; die mittlere Blindwert-Extinktion aus sechs Kontrollansätzen betrug 0,028.

Enzymeinheit

Als eine Enzymeinheit (U) wird diejenige Enzymmenge definiert, die unter standardisierten Bedingungen (pH 6,4; 37°) 1 μ Mol Asparaginy-Angiotensin II/Min. umsetzt.

Ergebnisse

Untersuchungen zur Kinetik der α -L-Asparaginy-Aminopeptidase

Die Abspaltung von Asparagin am Aminoende von Asparaginy-Angiotensin II durch die α -L-Asparaginy-Aminopeptidase (A_1AP) in Abhängigkeit von der Zeit ist in Abbildung 1 dargestellt. Die Hydrolyse folgt einer Reaktion nullter Ordnung. In Abbildung 2 ist die Aktivität der A_1AP in Abhängigkeit von der Substratkonzentration wiedergegeben. Die Messungen wurden bei 37° und einem pH-Wert von 6,4 durchgeführt. Aus dem Verlauf der Kurve und der Transformation nach LINEWEAVER und BURK (26) geht hervor, daß die Abspaltung von Asparagin der MICHAELIS-MENTEN-Kinetik gehorcht. Der K_m -Wert für Asparaginy-Angiotensin II beträgt 0,91 mM.

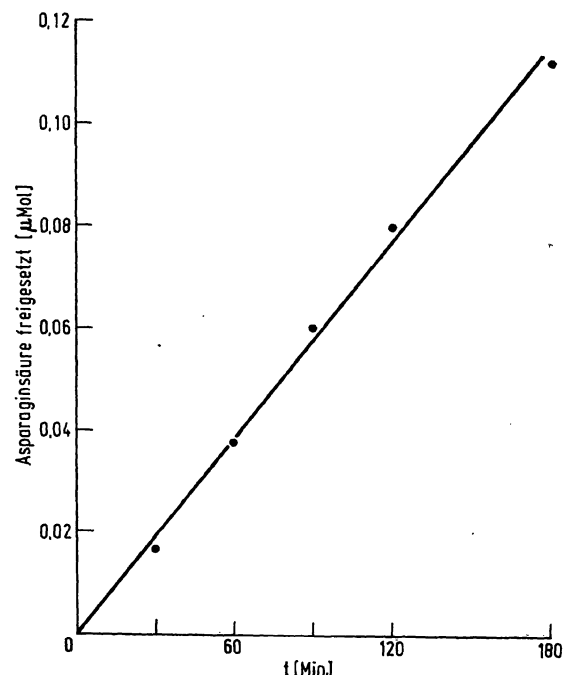


Abb. 1

Inaktivierung von Asparaginy-Angiotensin II durch Abspaltung von Asparagin durch die α -L-Asparaginy-Aminopeptidase in Abhängigkeit von der Zeit. Jeweils 1,5 ml Serum (1:1 verdünnt) wurden mit 15 mg Asparaginy-Angiotensin II in 6 ml 0,067M Phosphat-Puffer (pH 6,4) bei 37° inkubiert. Die Bestimmung von Asparagin erfolgte nach Überführung in Asparaginsäure im optischen Test; Einzelheiten vgl. Methodik

Tab. 1

Aktivitäten der α -L-Asparaginyl-Aminopeptidase (A_1AP), der alkalischen Phosphatase (AP) und der Alanin-Aminotransferase (GPT) im Serum bei 14 Patienten mit hepatobiliären Krankheiten

Nr.	Geschlecht	Klinische Diagnose	Aktivität der		
			A_1AP [U/l]	AP [U/l]	GPT [U/l]
1	♀	Gallengangsstrikturen, M. Boeck	82,87	750	90,0
2	♀	Verschlußikterus bei Metastasen	57,11	340	33,5
3	♀	Cholelithiasis	39,43	740	28,0
4	♀	Gallengangsstrikturen, Echinokokkus der Leber	38,49	416	18,0
5	♀	Verschlußikterus bei Tumor	30,97	400	—
6	♀	Verschlußikterus bei Ca des D. hepaticus	26,78	350	22,5
7	♀	Cholelithiasis	23,73	260	20,4
8	♀	Cholelithiasis	21,45	226	15,7
9	♀	hochgradige Lebercirrhose, portale Hypertension	16,84	190	—
10	♀	Cholelithiasis	16,37	432	56,3
11	♀	iatrogener Verschluß des Ductus hepaticus	16,37	212	45,0
12	♀	Lebercirrhose	13,96	241	33,5
13	♀	Pankreaskopf-Ca mit Lebermetastasen	13,24	154	27,0
14	♀	hochgradige Lebercirrhose, portale Hypertension	11,69	380	20,3

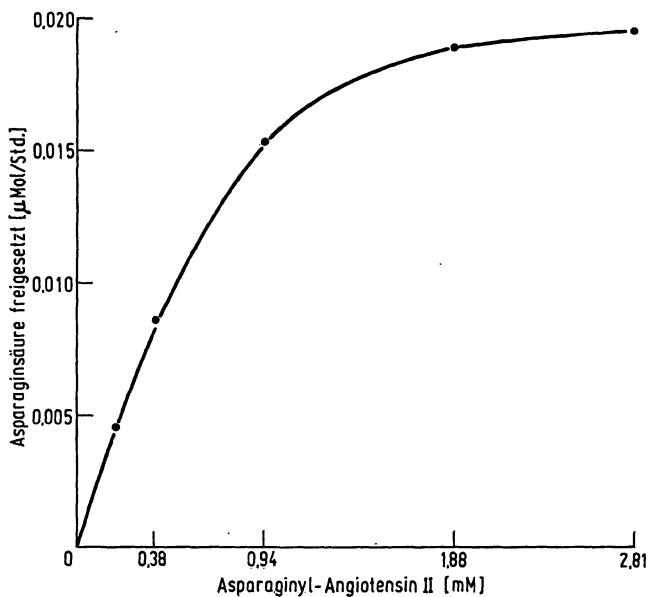


Abb. 2

Inaktivierung von Asparaginyl-Angiotensin II durch Abspaltung von Asparagin durch die α -L-Asparaginyl-Aminopeptidase in Abhängigkeit von der Substratkonzentration. Jeweils 1,5 ml Serum (1:1 verdünnt) wurden in 6 ml 0,067M Phosphat-Puffer (pH 6,4) mit steigenden Substratmengen 60 Min. bei 37° inkubiert. Die Bestimmung von Asparagin erfolgte nach Überführung in Asparaginsäure im optischen Test; Einzelheiten vgl. Methodik

Präzision der Methode

Die Präzision wurde durch 5fach-Bestimmungen der Aktivität der A_1AP im Serum einer Normalperson sowie im Serum eines Patienten mit Verschlußikterus ermittelt. Bei dem im Normalbereich liegenden Mittelwert von 6,22 U/l betrug die Standardabweichung $s \pm 0,35$ und der Variationskoeffizient VK 5,6%. Im Serum mit deutlich erhöhter Aktivität betrug bei einem Mittelwert von 32,28 U/l, $s \pm 0,85$ und VK 2,6%.

Normalwerte

Die Aktivität der A_1AP im Serum wurde bei 10 weiblichen und 15 männlichen Normalpersonen (Alter 22–48 Jahre) bestimmt. Bei den weiblichen Versuchspersonen ergaben sich Werte zwischen 4,60 und 9,70 U/l; der Mittelwert war 7,25 U/l. Bei den männlichen Personen lagen die Werte zwischen 4,17 und 10,31 U/l; der Mittelwert betrug 7,38 U/l. Der Unterschied zwischen den Normalwerten bei Frauen und Männern ist statistisch nicht signifikant. Faßt man beide

Gruppen zusammen, so beträgt der Mittelwert 7,33 U/l und $s \pm 1,72$.

Aktivität der Asparaginyl-Aminopeptidase bei hepatobiliären Krankheiten

Die Aktivität der A_1AP wurde im Serum von 9 weiblichen und von 5 männlichen Patienten mit hepatobiliären Krankheiten bestimmt; bei allen Patienten bestand klinisch der Verdacht auf eine Cholestase. Die Werte für die A_1AP lagen zwischen 11,69 und 82,87 U/l; der Mittelwert betrug 29,24 U/l. Gleichzeitig wurde bei allen 14 Patienten die Aktivität der alkalischen Phosphatase [EC 3.1.3.1] und der Alanin-Aminotransferase [EC 2.6.1.2] im Serum bestimmt. In Tabelle 1 sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen zusammengefaßt. Um die Abhängigkeit des Anstiegs der A_1AP -Aktivität vom Grad der Cholestase zu verdeutlichen, wurden die Patienten in drei Gruppen eingeteilt (Tab. 2):

Zur Gruppe A gehören sechs Patienten, bei denen klinisch ein Verschlußikterus oder Gallengangsstrikturen vorlagen;

Gruppe B umfaßt vier Patienten, die an einer Cholelithiasis litten;

Gruppe C enthält vier Patienten, bei denen als Folge einer Lebercirrhose oder eines Pankreaskopf-Carcinoms der Verdacht auf eine intra- oder extrahepatische Cholestase bestand.

Tab. 2

Aktivitäten der α -L-Asparaginyl-Aminopeptidase (A_1AP) und der alkalischen Phosphatase (AP) bei 3 Patientengruppen mit Cholestase verschiedener Pathogenese

Gruppe	Diagnose	Nr.	Aktivität der	
			A_1AP [U/l]	AP [U/l]
A	Verschlußikterus, Gallengangsstrikturen	1	82,87	750
		2	57,11	340
		4	38,49	416
		5	30,97	400
		6	26,78	350
		11	16,37	212
B	Cholelithiasis	\bar{x}	42,10	411
		3	39,43	740
		7	23,73	260
		8	21,45	226
		10	16,37	432
		\bar{x}	25,25	415
C	Leberparenchymerkrankungen	9	16,84	190
		12	13,96	241
		13	13,24	154
		14	11,69	380
		\bar{x}	13,93	241

Bei allen Patienten war die Aktivität der alkalischen Phosphatase deutlich erhöht. Obgleich die hier gewählte Einteilung, die nach klinischen Gesichtspunkten erfolgte, nur orientierend sein kann, läßt sich eine Beziehung zwischen der Aktivität der A_1AP und dem Ausmaß der Cholestase erkennen. Zur Objektivierung dieser Feststellung wurde der Korrelations-Koeffizient errechnet. Es ergab sich ein Wert von $r = +0,713$ und damit eine signifikante Korrelation zwischen der Erhöhung der Aktivität der alkalischen Phosphatase und der A_1AP im Serum von Patienten mit Cholestase ($0,005 > p > 0,001$).

Aktivität der Asparaginy-Aminopeptidase im Serum während der Schwangerschaft

Die Bestimmung der A_1AP -Aktivität im Serum von 15 schwangeren Frauen im 3. Trimenon ergab Werte zwischen 2,03 und 12,65 U/l (Tab. 3). Der Mittelwert

Tab. 3
Aktivität der α -L-Asparaginy-Aminopeptidase im Serum bei 15 schwangeren Frauen im 3. Trimenon

Aktivität der A_1AP [U/l]	Schwangerschaft	Komplikationen
2,03	I.	keine
3,95	I.	keine
4,03	IV.	Kreislaufkollaps
5,43	I.	Abortus imminens, Mens V
6,19	II.	keine
6,68	I.	keine
7,14	II.	keine
7,26	I.	keine
7,37	I.	keine
7,54	III.	keine
8,21	III.	keine
8,34	III.	keine
11,82	II.	vaginale Blutung, Mens V
12,40	III.	infektiöse Hepatitis
12,65	II.	Gallenkoliken

lag bei 7,40 U/l und entsprach damit etwa dem Mittelwert im Serum der weiblichen Normalpersonen (7,25 U/l). Die höchsten Aktivitäten wurden bei zwei Schwangeren gemessen, von denen die eine eine infektiöse Hepatitis überstanden hatte und die andere an Gallenkoliken litt.

Diskussion

Der Nachweis einer erhöhten Aktivität der Asparaginy-Aminopeptidase (A_1AP) bei hepatobiliären Krankheiten stimmt mit den bisherigen Angaben der Literatur (16 bis 18) überein; obwohl die einzelnen Autoren unterschiedliche Methoden benutzten, wurde als Substrat für die Inkubationen stets α -L-Asparaginy-Angiotensin II (Hypertensin Ciba) eingesetzt. Wie aus dem Korrelationskoeffizienten hervorgeht, konnte in der vorliegenden Arbeit eine Beziehung zwischen der erhöhten Aktivität der A_1AP einerseits und der alkalischen Phosphatase im Serum andererseits nachgewiesen werden. Demnach scheint der pathogenetische Mechanismus der Aktivitätssteigerung beider Enzyme gleich oder ähnlich zu sein.

Während die alkalische Serumphosphatase hauptsächlich aus den Osteoblasten des Knochens, aus der Leber und

aus dem Dünndarm stammt, ist die Aktivität der A_1AP im Lebergewebe geringer als im Erythrocytenlysat, Plasma, Dünndarm und in der Niere (27). In ähnlicher Reihenfolge ist die L-Leucyl-Peptid-Hydrolase (Leucinaminopeptidase, [EC 3.4.1.1]) in den Geweben verteilt: Niere, Dünndarm, Muskel, Gehirn, Colon, Milz, Hoden, Leber, Magenschleimhaut, Pankreas und Thymus (28). Wahrscheinlich sind Darm, Niere und Erythrocyten die hauptsächlichen Bildungsorte der normal vorkommenden A_1AP ; bei Krankheiten jedoch, die mit Cholestase einhergehen, stammt möglicherweise ein Teil der erhöhten Enzymaktivität aus der Leberzelle selbst. Ein entsprechendes Verhalten wurde auch für die alkalische Phosphatase diskutiert (29).

Wie aus unseren Untersuchungen hervorgeht, scheint eine Erhöhung der A_1AP -Aktivität im Serum hauptsächlich auf eine Retention infolge der Cholestase und nicht auf Leberzellnekrosen zurückzuführen sein. Um eine Aussage über die diagnostische Brauchbarkeit der Bestimmung von A_1AP machen zu können, müßte u. a. derjenige Sekretionsdruck der Galle im Ductus choledochus, der zu einem meßbaren Anstieg der A_1AP -Aktivität im Serum führt, ermittelt und mit demjenigen verglichen werden, bei welchem eine Erhöhung der alkalischen Serumphosphatase sowie der Leucinaminopeptidase beobachtet wird.

Zu erwähnen ist auch, daß die Leucinaminopeptidase ihrerseits ebenfalls Asparaginy-Angiotensin II hydrolysieren kann (5) und damit zur sogenannten Angiotensinase-Aktivität beiträgt. KLAUS und Mitarbeiter (8) sowie GOLDACKER und OELKERS (16) beschrieben einen parallelen Anstieg von Leucinaminopeptidase- und Angiotensinase-Aktivität im Serum von Leberkranken; im Serum von Schwangeren im 3. Trimenon fanden sie jedoch nur eine Erhöhung der Leucinaminopeptidase.

Die relativ niedrigen Blutdruckwerte bei Patienten mit chronischen Leberkrankheiten können wahrscheinlich nicht als Folge einer erhöhten Angiotensinase-Aktivität und damit eines beschleunigten Abbaus von Angiotensin erklärt werden; denn für die Inaktivierung des im menschlichen Organismus gebildeten Angiotensins (α -L-Aspartyl-⁵Isoleucin-Angiotensin II) ist nicht die A_1AP , sondern eine andere Angiotensinase geschwindigkeitsbestimmend (12, 25, 30, 31, 32). Nach Untersuchungen von LUBASH und Mitarbeitern ist diese Angiotensinase, die als Aminopeptidase A_2 (A_2AP , α -L-Aspartyl-Aminopeptidase) bezeichnet wird, bei Leberkrankheiten nicht signifikant erhöht (33). Dagegen ist die herabgesetzte vasopressorische Reaktion auf intravenöse Infusionen von α -L-Asparaginy-Angiotensin II (Hypertensin Ciba) bei Patienten mit dekompensierter Lebercirrhose (23, 24) mit der erhöhten Aktivität der A_1AP im Serum erklärbar.

Eine Erhöhung der A_1AP im Serum von Schwangeren konnte in der vorliegenden Untersuchung nicht nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis steht in scheinbarem Widerspruch zu den Befunden anderer Autoren, die eine erhöhte Angiotensinase-Aktivität im Serum während des 3. Trimenon beschrieben (12, 19–22, 30). Die

Methoden waren jedoch unterschiedlich: So inkubierten NAGATSU und Mitarbeiter (12) α -L-Aspartyl- β -naphthylamid, das vom gleichen Enzym, nämlich der A_2 AP, hydrolysiert wird wie das *in vivo* vorkommende Aspartyl-Angiotensin II (12), und verfolgten die Abspaltung der endständigen Asparaginsäure mit einem kolorimetrischen Verfahren. Die übrigen Autoren (19–22, 30) verwendeten zwar α -L-Asparaginyll-Angiotensin II, erfaßten jedoch bei der biologischen Messung des nicht inak-

tivierten Angiotensins sowohl die Aktivität der A_1 AP als auch die der Endopeptidasen nebeneinander. Die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse und unsere eigenen Untersuchungen erlauben die Schlußfolgerung, daß im 3. Trimenon die Aktivität der α -L-Aspartyl-Aminopeptidase (A_2 AP) und der Endopeptidasen, bei mit Cholestase einhergehenden hepato-biliären Krankheiten dagegen die Aktivität der α -L-Asparaginyll-Aminopeptidase (A_1 AP) erhöht ist.

Literatur

1. PLENTL, A. A., und I. H. PAGE, J. exper. Med. 79, 205 (1944). —
2. RINIKER, B. und R. SCHWYZER, Helv. chim. Acta 44, 658 (1961).
3. KOKUBU, T., E. UEDA, S. FUJIMOTO, K. HIWATA, H. SANGA und Y. YAMAMURA, Clin. chim. Acta, Amsterdam 12, 484 (1965). —
4. YANG, H. Y. T., E. G. ERDÖS und T. S. CHIANG, Nature 218, 1224 (1968). — 5. REGOLI, D., B. RINIKER und H. BRUNNER, Biochem. Pharmacol. 12, 637 (1963). — 6. KHAIRALLAH, P. A., F. M. BUMPUS, I. H. PAGE und R. R. SMEBY, Science 140, 672 (1963). —
7. KHAIRALLAH, P. A. und I. H. PAGE, Biochem. Med. 1, 1 (1967).
8. KLAUS, D., H. KAFFARNIK und H. PFEIL, Klin. Wschr. 41, 376 (1963). — 9. HICKLER, R. B., D. P. LAULER und G. W. THORN, J. clin. Invest. 42, 635 (1963). — 10. WOOD, J. E., Circulation 25, 225 (1962). — 11. WOLF, R. B., M. MENDLOWITZ, J. PICK, S. E. GITLOW und N. NAFTCHI, J. Laborat. clin. Med., S. Louis 60, 150 (1962). — 12. NAGATSU, I., L. GILLESPIE, J. E. FOLK und G. G. GLENNER, Biochem. Pharmacol. 14, 721 (1965). — 13. ITZKOWITZ, H. D., S. J. DUDRICK, I. DYRDA und J. J. MURPHY, Arch. intern. Med. 119, 241 (1967). — 14. LUBASH, G. D., E. C. HAMMEL und R. J. MEARLES, Clin. chim. Acta, Amsterdam 18, 439 (1967). — 15. BIRON, P., LANDESMAN, R. und J. C. HUNT, Nature 204, 1096 (1964). —
16. GOLDACKER, I. U. VON, und W. OELKERS, diese Z. 7, 250 (1969). — 17. BIRON, P., W. P. BALDUS und W. H. J. SUMMERSKILL, Proc. Soc. exper. Biol. (N. Y.) 116, 1074 (1964). — 18. KLAUS, D., H. KAFFARNIK und H. PFEIL, Klin. Wschr. 41, 380 (1963). —
19. LANDESMAN, R., P. BIRON, R. CASTELLANOS, R. LARUSSA und K. H. WILSON, Obstetr. Gynec. 22, 316 (1963). — 20. BERGER, M. und J. LANGHANS, Amer. J. Obstetr. Gynec. 98, 215 (1967). —
21. TALLEDO, O. E., Proc. Soc. exper. Biol. (N. Y.) 101, 254 (1968).
22. MORANDINI, G. und C. MANGIONI, Acta med. scand. 185, 311 (1969). — 23. LARAGH, J. H., P. C. CANNON, C. J. BENTZEL, A. M. SICINSKI und J. I. MELTZER, J. clin. Invest. 42, 1179 (1963).
24. KAPLAN, M. und J. G. SILAH, J. clin. Invest. 43, 659 (1964). —
25. OELKERS, W. und I. U. VON GOLDACKER, Klin. Wschr. 12, 649 (1967). — 26. LINEWEAVER, H. und D. BURK, J. Amer. chem. Soc. 56, 658 (1934). — 27. ITZKOWITZ, H. D. und L. MILLER, Amer. J. med. Sci. 254, 101 (1967). — 28. GREEN, M. N., K. C. TSOU, R. BRESSLER und A. M. SELIGMAN, Arch. Biochem. Biophysics 57, 458 (1955). — 29. EISENBURG, J., Fortschr. Med. 86, 903 (1968). —
30. HESS, R., Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) 99, 316 (1965). — 31. HODGE, R. L., K. K. F. NY und J. R. VANE, Nature 215, 138 (1967). — 32. JOHNSON, D. C. und J. W. RYAN, Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) 160, 196 (1968). — 33. LUBASH, G. D., E. C. HAMMEL und R. J. MEARLES, Amer. J. med. Sci. 255, 105 (1968).

Prof. Dr. H. Breuer
5300 Bonn-Venusberg
Inst. f. Klin. Biochemie u. Klin. Chemie